

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5515—2023

出口食品中氟唑菌酰胺残留量的测定
液相色谱-质谱/质谱法

Determination of fluxapyroxad residue in foods for export—
LC-MS/MS method

2023-11-01 发布

2024-05-01 实施

中华人民共和国海关总署 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本文件起草单位：中华人民共和国黄岛海关、青岛海关技术中心、中华人民共和国青岛海关、中国石油大学(华东)。

本文件主要起草人：郭庆龙、孙强、崔淑华、张谦、王萍、刘宏玉、曾景斌。

以正式出版文本为准

出口食品中氟唑菌酰胺残留量的测定

液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本文件规定了出口食品中氟唑菌酰胺残留量的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本文件适用于蔬菜、水果、糖料、谷物、油料和油脂、坚果、动物组织、乳、蛋、蜂蜜、干制水果、调味料和茶叶中氟唑菌酰胺残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 方法提要

试样中氟唑菌酰胺残留用乙腈提取，分散固相萃取净化，液相色谱-质谱/质谱检测，外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 乙腈：色谱纯。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 甲酸铵：色谱纯。

5.4 氯化钠。

5.5 无水硫酸镁：于 500 °C 马弗炉内灼烧 4 h，冷却后贮于密闭容器中备用。

5.6 N-丙基乙二胺(PSA)：粒径 40 μm~60 μm。

5.7 十八烷基硅烷键合相(C₁₈)：粒径 40 μm~60 μm。

5.8 石墨化炭黑(GCB)：粒径 40 μm~120 μm。

5.9 有机相滤膜：0.22 μm。

5.10 5 mmol/L 甲酸铵溶液：称取 0.315 g 甲酸铵溶解于适量水中，并定容至 1 000 mL。

5.11 氟唑菌酰胺标准物质(C₁₈H₁₂F₅N₃O, CAS 号 907204-31-3)：纯度≥99%。

5.12 标准储备液的配制：准确称取氟唑菌酰胺标准物质 25 mg(精确至 0.1 mg)于 25 mL 棕色容量瓶中，用乙腈溶解并定容至刻度，配制成浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液，于 -18 °C 以下避光保存，有效

期 12 个月。

5.13 标准中间溶液的配制:准确移取标准储备液 1.0 mL 至 100 mL 容量瓶中,用乙腈稀释并定容至刻度,配制成浓度为 10 mg/L 的标准中间溶液,于 0 °C~4 °C 冰箱内避光储存,有效期 3 个月。

5.14 基质标准工作溶液:准确吸取适量的标准中间溶液,用样品空白基质溶液配制成 0.000 5 μg/mL、0.001 μg/mL、0.002 μg/mL、0.005 μg/mL、0.01 μg/mL、0.02 μg/mL、0.05 μg/mL 浓度水平的系列标准工作溶液。该溶液现用现配。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-三重四级杆质谱仪:配备电喷雾离子源(ESI)。

6.2 高速组织捣碎机。

6.3 高速粉碎机。

6.4 匀浆机。

6.5 天平:感量 0.1 mg 和 0.01 g。

6.6 振荡器:转速不低于 200 r/min。

6.7 超声波清洗仪。

6.8 离心机:转速不低于 8 000 r/min。

6.9 涡旋振荡器:转速不低于 2 500 r/min。

6.10 马弗炉。

7 试样制备与保存

7.1 黄瓜、甘蓝、甜椒、洋葱、芹菜、马铃薯、荷兰豆、苹果、橙子、草莓、甜菜

取 500 g 代表性样品,用匀浆机制成匀浆,均分成两份,分别装入洁净容器中作为测试样品和备份样品,密封并做好标识。于-18 °C 以下保存。

7.2 大米、玉米、花生仁、榛子、干辣椒、葡萄干、绿茶

取 500 g 代表性样品,用高速粉碎机处理至粉状,均分成两份,分别装入洁净容器中作为测试样品和备份样品,密封并做好标识。于-18 °C 以下保存。

7.3 猪肉、鸡肝、羊脂肪

取 500 g 代表性样品,用高速组织捣碎机制成糊状,均分成两份,分别装入洁净容器中作为测试样品和备份样品,密封并做好标识。于-18 °C 以下保存。

7.4 牛奶、鸡蛋

取 500 g 代表性样品,鸡蛋应先去壳,充分混匀,均分成两份,分别装入洁净容器中作为测试样品和备份样品,密封并做好标识。于-18 °C 以下保存。

7.5 蜂蜜

取 500 g 代表性样品,对于无结晶的蜂蜜样品,将其搅拌均匀。对于有结晶的样品,在密闭的情况下,低于 60 °C 的水浴中温热,振荡,待样品全部融化后搅匀,迅速冷却至室温,在融化时应注意水分的蒸发。将样品均分成两份,分别装入洁净容器中作为测试样品和备份样品,密封并做好标识。于-18 °C 以下保存。

8 分析步骤

8.1 提取及净化

8.1.1 黄瓜、甘蓝、甜椒、洋葱、芹菜、马铃薯、荷兰豆、苹果、橙子、草莓、甜菜

称取试样 10 g (精确至 0.01 g), 置于 50 mL 具塞离心管中, 准确加入 20.0 mL 乙腈, 涡旋振荡 1 min, 振荡提取 10 min。加入 3.0 g 无水硫酸镁和 2.0 g 氯化钠, 迅速涡旋振荡 1 min, 8 000 r/min 离心 5 min。称取 150 mg 无水硫酸镁、50 mg PSA 和 50 mg C₁₈ 置于 2 mL 离心管(对于颜色较深的试样, 2 mL 离心管中另加入 7.5 mg GCB), 移取 1 mL 提取上清液转移至已加入净化剂的 2 mL 离心管中, 涡旋振荡 1 min, 8 000 r/min 离心 5 min。取上清液过 0.22 μm 有机微孔滤膜后, 供液相色谱-质谱/质谱测定。

8.1.2 大米、玉米、蜂蜜

称取试样 4 g (精确至 0.01 g), 置于 50 mL 具塞离心管中, 根据试样含水量情况加适量水混匀(加水量一般为 5 mL~8 mL), 放置 30 min。准确加入 20.0 mL 乙腈, 涡旋振荡 1 min, 振荡提取 10 min。加入 3 g 无水硫酸镁和 2 g 氯化钠, 迅速涡旋振荡 1 min, 8 000 r/min 离心 5 min。称取 150 mg 无水硫酸镁、50 mg PSA 和 50 mg C₁₈ 置于 2 mL 离心管(对于颜色较深的试样, 2 mL 离心管中另加入 7.5 mg GCB), 移取 1 mL 提取上清液转移至已加入净化剂的 2 mL 离心管中, 涡旋 1 min, 8 000 r/min 离心 5 min。取上清液过 0.22 μm 有机微孔滤膜后, 供液相色谱-质谱/质谱测定。

8.1.3 干辣椒、葡萄干、绿茶

称取试样 2 g (精确至 0.01 g) 于 50 mL 具塞离心管中, 试样中加 5 mL~10 mL 水混匀, 放置 30 min。准确加入 20.0 mL 乙腈, 涡旋振荡 1 min, 振荡提取 10 min, 超声提取 10 min 后, 加入 3 g 无水硫酸镁和 2 g 氯化钠, 迅速涡旋振荡 1 min, 8 000 r/min 离心 5 min。称取 150 mg 无水硫酸镁、50 mg PSA 和 50 mg C₁₈ 置于 2 mL 离心管(对于颜色较深的试样, 2 mL 离心管中另加入 7.5 mg GCB), 移取 1 mL 提取上清液转移至已加入净化剂的 2 mL 离心管中, 涡旋 1 min, 8 000 r/min 离心 5 min。取上清液过 0.22 μm 有机微孔滤膜后, 供液相色谱-质谱/质谱测定。

8.1.4 花生仁、榛子、猪肉、鸡肝、羊脂肪、牛奶、鸡蛋

称取试样 4 g (精确至 0.01 g) 于 50 mL 具塞离心管中, 根据样品含水量情况加适量水混匀(牛奶不加水, 鸡蛋加入 3 mL 水, 其余加入 5 mL 水), 放置 30 min。准确加入 20.0 mL 乙腈, 于涡旋振荡 1 min, 振荡提取 10 min, 超声提取 10 min 后, 加入 3 g 无水硫酸镁和 2 g 氯化钠, 迅速用涡旋振荡 1 min, 8 000 r/min 离心 5 min, 将该离心管置于 -18 °C 冰柜中冷冻 30 min。称取 150 mg 无水硫酸镁、50 mg PSA 和 50 mg C₁₈ 置于 2 mL 离心管(对于颜色较深的试样, 2 mL 离心管中另加入 7.5 mg GCB), 从冷冻 30 min 后的离心管中迅速移取 1 mL 提取上清液转移至已加入净化剂的 2 mL 离心管中, 涡旋振荡 1 min, 8000 r/min 离心 5 min。取上清液过 0.22 μm 有机微孔滤膜后, 供液相色谱-质谱/质谱测定。

8.2 测定

8.2.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱: C₁₈ 柱, 100 mm×2.1 mm, 1.8 μm, 或相当者;
- b) 流速: 0.2 mL/min;
- c) 进样量: 2 μL;
- d) 柱温: 30 ℃;
- e) 流动相及梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	甲醇/%	5 mmol/L 甲酸铵溶液/%
0.0	25	75
0.5	25	75
2.5	90	10
6.0	98	2
6.1	25	75
10.0	25	75

8.2.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- a) 电离方式: 电喷雾电离 (ESI);
- b) 扫描方式: 正离子扫描;
- c) 检测方式: 多反应监测模式 (MRM);
- d) 使用前应调节各参数使质谱灵敏度达到检测要求, 参考条件参见附录 A。

8.2.3 定性测定

按照液相色谱-质谱/质谱条件测定样品和标准工作溶液, 如果被测试样中目标色谱峰的保留时间与基质标准溶液氟唑菌酰胺色谱峰的保留时间相差不超过±2.5%, 氟唑菌酰胺离子均出现, 离子丰度比与质量浓度相当的基质标准溶液相比, 其允许的相对偏差不得超过表 2 规定的范围, 则可判断样品中存在氟唑菌酰胺。

表 2 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	20~50	10~20(含)	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

8.2.4 定量测定

根据试样中被测物的含量情况, 选取响应值相近的标准工作溶液一起进行色谱分析。标准工作溶液和待测液中氟唑菌酰胺的响应值应在仪器线性相应范围内。如果试样溶液浓度超过标准曲线的上限, 须用乙腈稀释试样溶液至线性范围后再进行测定。在上述仪器条件下, 氟唑菌酰胺的参考保留时间为 4.5min。氟唑菌酰胺的液相色谱-质谱/质谱多反应监测 (MRM) 色谱图参见附录 B。

8.2.5 空白试验

除不称取试样外, 均按上述操作步骤进行。

9 结果计算和表述

试样中被测物质的残留量由液相色谱-质谱/质谱仪的数据处理软件或按公式(1)计算样品中氟唑菌酰胺的残留量。计算结果应扣除空白值,保留两位有效数字。

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X —— 样品中氟唑菌酰胺的残留量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c —— 从基质标准曲线得到的试样测定液中氟唑菌酰胺的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

V —— 试样测定液的最终定容体积,单位为毫升(mL);

m —— 最终样液所代表的试样质量,单位为克(g)。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

黄瓜、甘蓝、甜椒、洋葱、芹菜、马铃薯、荷兰豆、苹果、橙子、草莓、甜菜中氟唑菌酰胺定量限为 0.002 mg/kg,大米、玉米、花生仁、榛子、猪肉、鸡肝、羊脂肪、牛奶、鸡蛋、蜂蜜中氟唑菌酰胺定量限为 0.005 mg/kg。干辣椒、葡萄干、绿茶中氟唑菌酰胺定量限为 0.01 mg/kg。

10.2 回收率

采用本方法对黄瓜、甘蓝、甜椒、洋葱、芹菜、马铃薯、荷兰豆、苹果、橙子、草莓、甜菜、大米、玉米、花生仁、榛子、猪肉、鸡肝、羊脂肪、牛奶、鸡蛋、蜂蜜、干辣椒、葡萄干和绿茶 24 种基质进行添加回收率试验,氟唑菌酰胺的添加水平及回收率参见附录 C。

附 录 A
(资料性)
质谱参数¹⁾

液相色谱-质谱/质谱参数如下：

- a) 毛细管电压:4 000 V；
- b) 雾化气压力:275.8 kPa(氮气)；
- c) 干燥气温度:350 ℃；
- d) 干燥气流速:6.0 L/min(氮气)；
- e) 鞘气温度:350 ℃；
- f) 鞘气流速:10.0 L/min(氮气)；
- g) 定性定量离子和优化的裂解电压和碰撞能量见表 A.1。

表 A.1 主要质谱参数

中文名称	英文名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	裂解电压/V	碰撞能量/eV
氟唑菌酰胺	Fluxapyroxad	382.0	314.0	100	24
			342.0 ^a	100	20
^a 为定量离子。					

1) 非商业性声明:附录 A 所列参数是在 Agilent 1290-6460 质谱仪上完成的,此处列出试验用仪器型号仅是为了提供参考,并不涉及商业目的,鼓励文件使用者尝试采用不同厂家或型号的仪器。

附录 B

(资料性)

氟唑菌酰胺标准物质多反应监测(MRM)色谱图

氟唑菌酰胺标准物质多反应监测(MRM)色谱图见图 B.1。

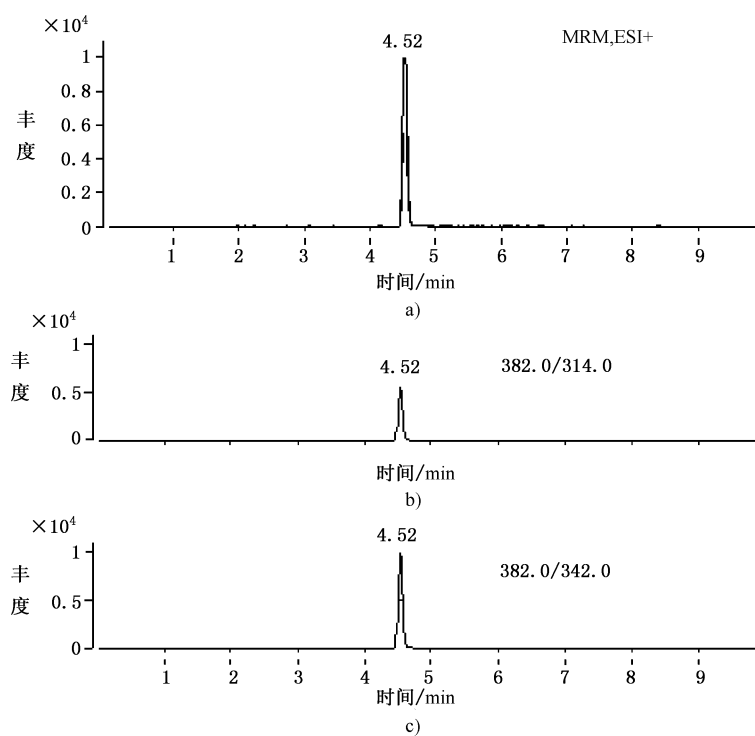


图 B.1 0.01 mg/L 氟唑菌酰胺的甘蓝基质标准溶液的多反应监测(MRM)色谱图

附 录 C

(资料性)

不同基质添加回收率范围

不同基质添加回收率范围见表 C.1。

表 C.1 氟唑菌酰胺在黄瓜、甘蓝、甜椒、洋葱、芹菜、马铃薯、荷兰豆、苹果、橙子、草莓、甜菜、大米、玉米、花生仁、榛子、猪肉、鸡肝、羊脂肪、牛奶、鸡蛋、蜂蜜、干辣椒、葡萄干和绿茶中的添加回收率范围

样品基质	添加浓度/(mg/kg)	回收率范围/%	样品基质	添加浓度/(mg/kg)	回收率范围/%
黄瓜	0.002	88.6~105.2	玉米	0.005	82.5~98.9
	0.2	84.8~95.4		0.01	81.0~95.8
	1	82.4~93.5		0.1	96.5~108.6
甘蓝	0.002	85.1~107.2	花生仁	0.005	91.2~105.9
	2	78.3~92.9		0.01	89.3~103.3
	10	85.1~94.8		0.1	89.3~93.8
甜椒	0.002	90.6~109.2	榛子	0.002	85.5~108.3
	0.5	87.7~100.9		0.04	84.1~100.3
	2.5	85.5~94.6		0.4	79.6~93.1
洋葱	0.002	96.1~108.7	猪肉	0.005	93.7~104.9
	0.6	85.8~100.9		0.01	85.4~100.2
	3	79.3~91.5		0.1	89.1~100.5
芹菜	0.002	89.2~109.2	鸡肝	0.005	75.5~94.0
	10	80.2~96.7		0.01	85.8~97.3
	20	91.8~104.2		0.1	88.4~96.8
马铃薯	0.002	90.9~105.1	羊脂肪	0.005	88.4~110.6
	0.02	96.1~109.5		0.01	76.8~97.6
	0.1	95.3~103.7		0.1	82.7~95.5
荷兰豆	0.002	87.1~100.2	牛奶	0.005	75.1~92.4
	2	91.7~105.4		0.01	84.7~99.9
	10	87.8~99.9		0.1	84.0~95.3
苹果	0.002	93.2~103.4	鸡蛋	0.005	79.7~96.1
	0.5	87.6~100.6		0.01	85.3~98.4
	2.5	83.8~93.6		0.1	92.5~99.0
橙子	0.002	82.1~101.1	蜂蜜	0.005	84.0~92.9
	0.2	86.8~99.9		0.01	76.8~96.4
	1	90.0~99.9		0.05	91.7~105.3
草莓	0.002	85.1~109.3	干辣椒	0.01	89.3~105.9
	2	89.7~100.3		5	78.4~93.7
	10	87.8~100.5		10	82.4~97.0
甜菜	0.002	92.3~105.1	葡萄干	0.01	83.3~101.3
	0.1	81.3~100.6		5	79.1~93.4
	0.5	100.3~107.9		10	79.6~92.9
大米	0.005	84.5~104.7	绿茶	0.01	76.0~87.2
	0.05	92.6~99.8		0.05	79.8~97.2
	0.5	81.2~94.5		0.25	84.5~98.7